



昆虫産業

地上最大の未利用資源の活用

梅谷献二・編

社団法人 農林水産技術情報協会

150g くらい) に
容器に移す。

血球を採取す
肩を切ったりし
器に受けるやり
などの上面が開
滴下する。血液
分くらい放置し
させる。前二者
はないが、プラ
の細胞が大体付
の隙付着してい
てられる。最後
ら血液を採って
皮をよく攪拌し、

の中に血液を滴
よく攪拌し、採
い塩類溶液を加
する。最後の血
性の血球のみな
ノシトイドなど
死に、培地更新
離した細胞の培
細胞塊を形成す
成している細胞

変わるとか、結
。血球の培養で
ニゼーションが
培地を加える。
日に1回くらい

の割で培地を更新したほうがよい。その場合、培地全量を換えるのではなく、
1/3~1/2 量を更新するようにしたほうがよい。

(4) 培養の経過

組織片または細胞塊から培養をはじめる場合は移植片培養と呼ばれる。この場
合は培養をはじめるにあたり組織片(移植片)を構成している細胞が周辺に出てく
る。これを細胞の遊出または移住という(図1)。細胞遊出が盛んに起こると、見
かけ上細胞の数が増えるので、増殖したように思われるが、実際はただ細胞が居
場所を変えただけのことが多く、確実に増殖したと言うためには細胞分裂を確認
する必要がある。培養の初期では主として細胞遊出が起こり、ある程度細胞が遊
出してから遊出した細胞が分裂して増えるという経過を取ることが多い。



図1 アゲハチョウ蛹の卵巣初代培養で
植え込んだ卵巣小管小片から周辺
に遊出する細胞。白線は 200 μ m

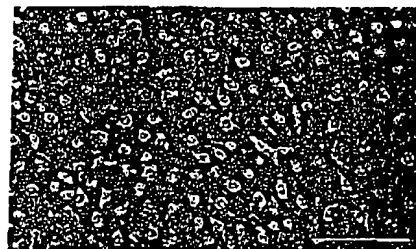


図2 ツマグロヨコバイ胚子細胞初代培
養で形成された上皮細胞状細胞の
セルシート。白線は 100 μ m

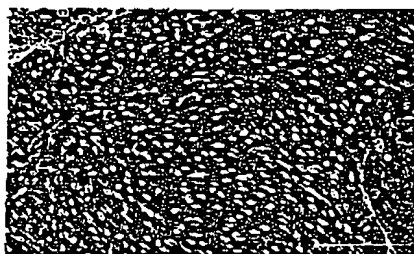


図3 ツマグロヨコバイ胚子細胞初代培
養で形成された繊維芽細胞状細胞
のネットワーク。白線は 100 μ m

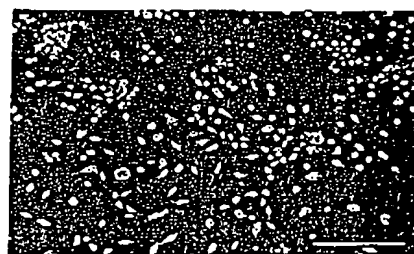


図4 ツマグロヨコバイ胚子細胞初代培
養で移植片から遊出する血球状細
胞。白線は 100 μ m

III 昆虫の機能の利用 2

組織片から遊出してくる細胞にはいろいろな型のものがある。しかし、その主なものは形態や性質から大きく3種類に分けることができる。第1の型は上皮細胞状細胞で、この型の細胞は培養ビンの底などの内側にぴったりと張りついて細胞膜を薄く伸展し、輪郭は一般に多角形で、隣接する細胞とたがいに付着し合っ、タイルを敷き詰めたように一つの層を形成する(図2)。これを細胞の単層(モノレーヤー)と呼んでいる。それぞれの細胞の形や大きさにはかなりバラツキがあり、2核細胞、多核細胞なども見られる。第2の型は繊維芽細胞状細胞で、これは多くは紡錘形をしていて、その両端でだけ、他の細胞と接する性質を持っている。したがって、網目状あるいは鎖状のいわゆるネットワークを形成する(図3)。第3の型は遊離細胞または血球状細胞とも言うべき細胞で、ほかの細胞に付着することなく、個々の細胞がばらばらに散在する。この型の細胞は運動が活発で、微速度映画によって解析すると、一つ一つの細胞がアメーバのように他の細胞の間を縫って動き回っている様子がわかる(図4)。

これら遊出した細胞はすべてが増殖するわけではない。しかし、ごく一部の細胞でも増殖すると、その型の細胞は急速に増えてじきに培養ビンの中で最優勢細胞となる。したがって初代培養で細胞遊出期には多様であった細胞構成は培養が進むにつれて単純化されてくる。

初代培養で細胞が増殖して培養ビンの底面の全面を被うようになったなら、植え継ぎを行う。植え継ぎは細胞を培地に懸濁させて、それをいくつかの培養容器に分注して細胞密度を下げることである。したがって培地に懸濁した状態で増殖している細胞を植え継ぐのは簡単に、培養容器を振るとか、ビベッティングでほぼ均一な細胞懸濁液を得ることができる。培養容器の底などに張りついている細胞を懸濁させるためには、付着の程度が軽ければビベッティングだけで細胞は器壁から遊離して懸濁状態になるが、強く付着している細胞を懸濁させる場合には、物理的に剝離する方法と、化学的に消化する方法がある。前者はゴムの小片を棒の先に付けたいわゆるラバーポリスマンで細胞をこすり取ってビベッティングで培地に分散させる方法である。この方法は簡単であるが、どうしてもある程度の細胞はつぶれたり、傷ついたりして死んでしまう。後者の方法は、タンパク分解酵素などで細胞を処理し、器壁から遊離させる方法である。まずそれまで培養してきた培地を捨て、酵素液を入れる。酵素としては、トリプシン、ヒアルロニダーゼ、プロナーゼ、ディスパーゼ、パンクレアチン、パバインなどが用いられる。細胞によっては特定の酵素に弱いものもあり、また逆にある酵素ではほと

んど消化されで確かめておすぎないようにンパク質を含さる。酵素処理にかけて、低いくつかの培養ことが望まし植え継ぎにげないことが胞密度まで回ることもある、増殖が遅く、普通である。

り、また密度る。これは多はないかと思くなり、またとによるものいると考えら連続継代性それは増殖性、あるいは細胞と持しているとわりに用いる

2. 連続継代

前述のように400以上ある細胞でない限りを書かない人、あるいは保存